



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Off nl gungsschrift**
⑩ **DE 42 04 102 A 1**

⑳ Aktenzeichen: P 42 04 102.3
㉑ Anmeldetag: 12. 2. 92
㉒ Offenlegungstag: 19. 8. 93

㉓ Int. Cl.⁵:
A 61 K 31/505
A 61 K 31/68
A 61 K 31/44
A 61 K 31/195
C 07 C 323/58
// (A61K 31/505,
31:68,31:44,
31:195)C07D 499/44,
239/54,239/47,
487/22,213/60

DE 42 04 102 A 1

㉔ Anmelder:
Kragler, Peter, 8000 München, DE

㉕ Vertreter:
Kraus, W., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Weisert, A.,
Dipl.-Ing. Dr.-Ing.; Spies, J., Dipl.-Phys.,
Pat.-Anwälte; Nielsen, F., Dr., Rechtsanw., 8000
München

㉖ Erfinder:
Erfinder wird später genannt werden

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

㉗ Arzneimittel zur Behandlung und/oder Prophylaxe von AIDS und anderen verwandten Erkrankungen

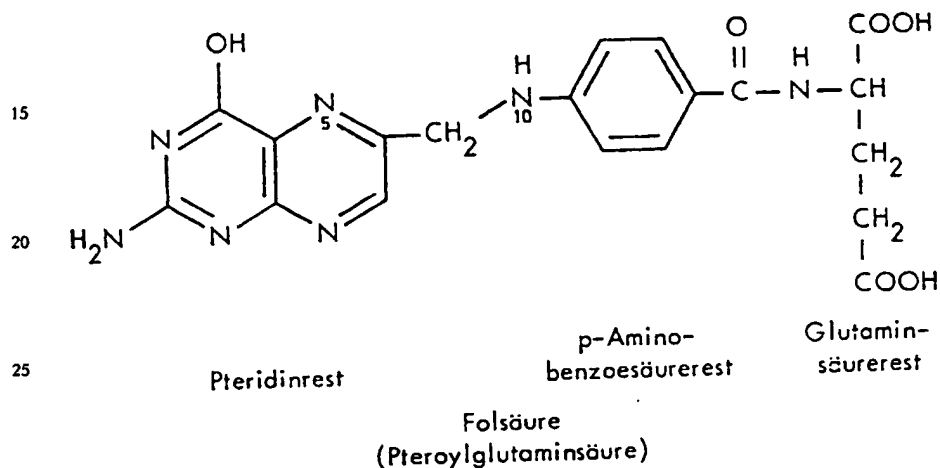
㉘ Die Erfindung betrifft ein Arzneimittel, das dadurch gekennzeichnet ist, daß es mindestens eine Verbindung aus der Gruppe Methionin, Vitamin B₁₂, Vitamin B₆, Thymin, 5-Methylcytosin und pharmazeutisch annehmbare Salze davon zusammen mit Penicillin G und/oder einem pharmazeutisch annehmbaren Salz davon sowie übliche Träger und Verdünnungsmittel enthält, sowie die Verwendung von mindestens einer Verbindung aus der Gruppe Vitamin B₆, Vitamin B₁₂, Methionin, Thymin, 5-Methylcytosin und eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes davon zusammen mit Penicillin G und/oder einem pharmazeutisch annehmbaren Salz davon zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Störungen des Folat-Stoffwechsels, wobei die Verwendung der Verbindungen aus der Gruppe Methionin, Vitamin B₁₂, Vitamin B₆, Thymin, 5-Methylcytosin und den pharmazeutisch annehmbaren Salzen davon gleichzeitig, getrennt oder zeitlich abgestuft mit der Verwendung von Penicillin G und/oder einem pharmazeutisch annehmbaren Salz davon erfolgen kann.

DE 42 04 102 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Arzneimittel und die Verwendung bestimmter Verbindungen zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Störungen des Folat-Stoffwechsels, insbesondere zur Behandlung und/oder Prophylaxe von AIDS oder Aids-Related-Complex (ARC), Chronic-Immuno-Deficiency-Syndrome (CIDS) bzw. Chronic-Fatigue-Syndrome (CFS), multipler Sklerose (MS), Neoplasien und geriatrischen Erkrankungen.

Die Folsäure und ihre Derivate sind in der Natur verbreitet und für den Menschen ein essentieller Nahrungsfaktor. Die Folsäure der folgenden Formel I selbst ist ein Vitamin, dessen Mangel bei Mensch und Tier Wachstumsschwäche und verschiedene Formen der Anämie hervorruft:



Die Bezeichnung Folsäure wird für alle Verbindungen verwendet, die als chemischen Bestandteil einen Pteridinrest, einen para-Aminobenzoesäurerest und einen oder mehrere Glutaminsäurereste enthalten. In höheren Organismen herrscht jedoch das Monoglutamat vor. Die Folsäure nimmt im Stoffwechsel der Ein-Kohlenstoffeinheiten eine zentrale Position ein. Sie ist Coenzym von Methyl-, Methenyl-, Methylene- und Formylgruppen übertragenden Enzymen und somit an zahlreichen Biosyntheseprozessen, insbesondere des Protein- und Nucleotid-Stoffwechsels beteiligt.

Die biologisch wirksame Form der Folsäure sind die 5,6,7,8-Tetrahydroderivate (5,6,7,8-Tetrahydro-pteroylglutamat bzw. 5,6,7,8-Tetrahydro-pteroyl-poly-gamma-glutamat, Tetrahydrofolsäure). Insbesondere ist die Folsäure an der Synthese biologischer Makromoleküle im Körper, wie von Proteinen, DNA und RNA, beteiligt. Die beigefügte Fig. 1 zeigt eine Übersicht über den Teil des Folsäure-Stoffwechsels, der mit der Makromolekularsynthese assoziiert ist. Wie daraus hervorgeht, nehmen die Enzyme Homocystein-Methioninmethyltransferase (EC 2.1.1.13) und Thymidylatsynthetase (EC 2.1.1.45) eine zentrale Rolle ein.

Die Pyrimidinbasen werden im "salvage pathway" durch Phosphorylasen zu Nucleosiden und weiter durch Nucleosid- und Nucleotidkinasen zu den Nucleotidtriphosphaten phosphoryliert. 5-Methylcytosin und 5-Methyldeoxycytidinmonophosphat werden zu Thymin bzw. Deoxythymidinmonophosphat (Thymidilat) desaminiert und umgehen somit die Thymidylatsynthase.

Die Stoffe der Thyminreihe sind:

Die Base Thymin.

Die Nucleoside Ribothymidin, Deoxythymidin.

Die Nucleotide Ribothymidinmonophosphat, Ribothymidindiphosphat, Ribothymidintriphosphat, Deoxythymidinmonophosphat, Deoxythymidindiphosphat, Deoxythymidintriphosphat.

Die Stoffe der 5-Methylcytosinreihe sind:

Die Base 5-Methylcytosin.

Die Nucleoside 5-Methylcytidin, 5-Methyldeoxycytidin.

Die Nucleotide 5-Methylcytidinmonophosphat, 5-Methylcytidindiphosphat, 5-Methylcytidintriphosphat, 5-Methyldeoxycytidinmonophosphat, 5-Methyldeoxycytidindiphosphat, 5-Methyldeoxycytidintriphosphat.

Der tägliche Bedarf an dTTP liegt bei 1 mMol (= 0,5 g). Toxische Nebenwirkungen wurden erst in Dosierungen über 160 mMol/m²/Tag in Form von Myelosuppression, gastrointestinalen Symptomen, Leberfunktionsstörungen und zentralnervösen Störungen beobachtet. Sie sind zurückzuführen auf eine Blockierung der Ribonucleotidreduktase für CDP durch hohe dTTP Spiegel, weswegen in jedem Fall 1—4 mMol (0,25—1 g) Deoxycytidin dazuzugeben ist.

Die Thymidylatsynthetase führt dabei zu den Nucleotiden der Thymidinreihe. Diese Reaktionen werden als obligatorische DNA-Methylierung bezeichnet. Es handelt sich dabei um eine Methylierung von 2,4-Di-hydroxypyrimidin in Position 5 mit der Zielverbindung 5-Methyluracil = Thymin. Die Homocystein-Methioninmethyltransferase führt zum Stoffwechselweg der sogenannten fakultativen DNA-Methylierung, d. h. der Methylierung von 2-Hydroxy-4-amino-pyrimidin in Position 5 mit der Zielverbindung 5-Methylcytosin. Dabei dient Vitamin B₁₂ als Cofaktor der Homocystein-Methioninmethyltransferase.

Methionin ist dabei an Reaktionen beteiligt, die der Regeneration des Folat-Coenzyms (der 5-Methyl-tetrahy-

dro-pteroyl-glutaminsäure) dienen. Methionin gehört zu den für den Menschen essentiellen Aminosäuren; der tägliche Minimalbedarf des Menschen liegt bei 1,1 g/Tag.

Die Funktion einer Zelle ist sowohl von der obligatorischen als auch von der fakultativen Methylierung abhängig. Dadurch entsteht das spezielle DNA-Methylierungsmuster, wodurch die Transkription und die Translation, d. h. die Genexpression, reguliert werden.

Der tägliche Bedarf an Folsäure liegt beim Menschen bei 0,4 bis 0,8 mg pro Tag. Er kann durch Verabreichung verschiedener Medikamente, wie Tuberculostatika oder Contraceptiva, erhöht werden.

Vitamin B₆ oder Pyridoxin, das im Körper in die Wirkform Pyridoxalphosphat (PLP) überführt wird, ist ein Coenzym des Aminosäure-Stoffwechsels. In dem in Fig. 1 betrachteten Fall wirkt Vitamin B₆ als Coenzym der Serinhydroxymethyltransferase. Der tägliche Bedarf an Vitamin B₆ liegt beim Menschen bei 2 bis 2,5 mg/Tag, der an Vitamin B₁₂ bei 5 bis 8 µg/Tag.

Penicillin G gehört zu der Gruppe der β -Lactam-Antibiotika. Sie sind bei allen Infektionskrankheiten, deren Erreger penicillinsensibel sind, indiziert. Die Dosierung richtet sich in der Regel nach der Schwere des Falles und dem verwendeten Präparat. Mit toxischen Nebenwirkungen muß bei Penicillinen nicht gerechnet werden, nur bei extrem hohen Dosen (20 bis 30 mega I.E. i.v.) oder bei intralumbaler Applikation wurden neurologische Ausfallerscheinungen beobachtet. Dagegen können allergische Nebenerscheinungen von unterschiedlicher Häufigkeit und Schwere je nach Art der individuellen Disposition der Applikation oder des verwendeten Penicillins auftreten. Besonders häufig ist die Allergisierung bei lokaler Anwendung.

Erkrankungen wie AIDS, ARC (Aids-Related-Complex), CIDS (Chronic-Immuno-Deficiency-Syndrom), CFS (Chronic-Fatigue-Syndrom) und multiple Sklerose treten in jüngerer Zeit verstärkt auf. Bis heute konnte für derartige Erkrankungen keine zufriedenstellende Therapie entwickelt werden.

So können AIDS, ARC und CIDS bisher nur symptomatisch und in unzureichendem Maß behandelt werden. Dies geschieht beispielsweise durch die Verabreichung falscher Nucleotide, z. B. Azidothymidin. Derartige Behandlungsmethoden sind jedoch zum Teil mit erheblichen psychischen und körperlichen Beeinträchtigungen des Allgemeinbefindens der Patienten verbunden. So kann es beispielsweise zu Schäden an verschiedenen inneren Organen kommen. Ebenso wurde eine allgemeine Schwächung des Organismus beobachtet, wodurch der Körper anfällig für opportunistische Folgeinfektionen wird. Derartige Therapien besitzen somit einen lebensverlängernden, nicht jedoch einen lebenserhaltenden Effekt. Eine Heilung derartiger Erkrankungen ist bisher noch nicht beobachtet worden.

Bei dem Chronic-Fatigue-Syndrom (CFS), einem durch abnorme Müdigkeit und Lethargie gekennzeichneten Zustand, handelt es sich vermutlich um eine Erkrankung des Immunsystems, bei der im Blut der Patienten Genfragmente, die sich von dem HTLV-2-Virus ableiten, gefunden wurden (Newsweek, 12. November 1990, Seiten 62 bis 70).

Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen dem Folat-Stoffwechsel und AIDS sind aus dem Stand der Technik nur unzureichend zu entnehmen. So wird eine Verbesserung der Metaplasie (Gewebsneubildung) eines normalerweise mit Zylinderepithel ausgekleideten Lungenbronchus bei Rauchern durch Gabe von Folat und Vitamin B₁₂ im JAMA, 11. März 1988, Band 259, Nr. 10, Seiten 1525 bis 1530, beschrieben.

Auf einen Zusammenhang zwischen AIDS und Folatmangel wird in The Lancet, 29. August 1987, Seite 509, hingewiesen.

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Arzneimittel und die Verwendung bestimmter Verbindungen zur Behandlung und/oder Prophylaxe für die obengenannten Krankheiten zur Verfügung zu stellen.

Das erfindungsgemäße Arzneimittel bzw. die erfindungsgemäße Verwendung soll für den Patienten mit keinen psychischen und physischen Belastungen verbunden sein. Das Arzneimittel soll in einfacher Weise, beispielsweise in Form von Tabletten, verabreicht werden. Soweit wie möglich soll bei dem erfindungsgemäßen Arzneimittel und bei der erfindungsgemäßen Verwendung eine stationäre Behandlung vermieden werden. Nebenwirkungen, die bei den bisherigen Arzneimitteln auftreten, wie eine Schwächung der Immunabwehr, sollen bei dem erfindungsgemäßen Arzneimittel bzw. bei der erfindungsgemäßen Verwendung vermieden werden.

In dem erfindungsgemäßen Arzneimittel bzw. bei der erfindungsgemäßen Verwendung sollen Stoffe eingesetzt werden, die den Körper nicht belasten und vorzugsweise körpereigene Stoffe sind oder Stoffe sind, die schon seit langem als Arzneimittel für andere Indikationen, beispielsweise als Vitamine, verwendet werden.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß Erkrankungen wie AIDS und Aids-Related-Complex (ARC), Chronic-Immuno-Deficiency-Syndrom (CIDS) bzw. Chronic-Fatigue-Syndrom (CFS) und multipler Sklerose (MS) mit einer Störung des Folat-Stoffwechsels assoziiert sind und erfolgreich behandelt werden können, wenn Verbindungen eingesetzt werden, die in den Folat-Stoffwechsel eingreifen.

Gegenstand der Erfindung ist ein Arzneimittel, das dadurch gekennzeichnet ist, daß es mindestens eine Verbindung aus der Gruppe Methionin, Vitamin B₁₂, Vitamin B₆, Thymin, 5-Methylcytosin (m⁵ Cytosin) und pharmazeutisch annehmbaren Salzen davon zusammen mit Penicillin G und/oder pharmazeutisch annehmbaren Salzen davon sowie übliche Träger und/oder Verdünnungsmittel enthält.

Gegenstand der Erfindung ist weiterhin die Verwendung von mindestens einer Verbindung aus der Gruppe Methionin, Vitamin B₁₂ und Vitamin B₆, Thymin, 5-Methylcytosin und eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes davon zusammen mit Penicillin G und/oder einem pharmazeutisch annehmbaren Salz davon zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Störungen des Folat-Stoffwechsels, wobei die Verwendung von Verbindungen aus der Gruppe Methionin, Vitamin B₁₂, Vitamin B₆, Thymin, 5-Methylcytosin und eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes davon gleichzeitig, getrennt oder zeitlich abgestuft mit der Verwendung von Penicillin G und/oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes davon erfolgen kann.

Mit den erfindungsgemäßen Arzneimitteln und gemäß der erfindungsgemäßen Verwendung können Erkran-

kungen wie AIDS, ARC, CIDS oder CFS prophylaktisch oder therapeutisch behandelt werden. Bei den erfindungsgemäßen Arzneimitteln und bei der erfindungsgemäßen Verwendung handelt es sich überwiegend um körpereigene Stoffe oder um Stoffe, die schon seit langer Zeit bei der Behandlung von Menschen verwendet werden. Der Metabolismus dieser Stoffe ist somit gut bekannt und führt zu keinerlei Nebenwirkungen.

Im Gegensatz zu den bisherigen Behandlungsformen dieser Erkrankungen sind die Verabreichung des erfindungsgemäßen Arzneimittels und die erfindungsgemäße Verwendung nicht mit den üblichen psychischen und physischen Belastungen für den Patienten verbunden. Das Arzneimittel kann in einfacher Weise, z. B. in Form einer Tablette, verabreicht werden; eine stationäre Behandlung ist in den meisten Fällen nicht erforderlich. Da es sich um körpereigene Stoffe handelt, ist die Einnahme des erfindungsgemäßen Arzneimittels nicht mit unangenehmen Nebenwirkungen verbunden.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung der Verbindungen Methionin, Vitamin B₁₂, Vitamin B₆, Thymin, 5-Methylcytosin zusammen mit Penicillin G und/oder einem pharmazeutisch annehmbaren Salz davon zur Behandlung und/oder Prophylaxe von AIDS und Aids-Related-Complex (ARC), Chronic-Immuno-Deficiency-Syndrome (CIDS) bzw. Chronic-Fatigue-Syndrome (CFS) und multipler Sklerose (MS).

Die Anmelder haben die Basaltransformation von Lymphozyten von AIDS-Patienten und deren Stimulierbarkeit durch Lektine an Hand der quantitativen Inkorporation von radioaktiv markiertem Thymidin in die DNA der Lymphozyten gemessen.

Dabei wurde überraschenderweise gefunden, daß unstimulierte Lymphozyten bis 300% mehr Thymidin inkorporierten als die gesunden Patienten. Dies legt einen Thymidinmangel nahe. Regt man dagegen derartige Lymphozyten mit Lektinen zur Proliferation an und gibt radioaktiv markiertes Thymidin zu, so wird nur eine schwache Stimulierbarkeit und kein Thymidineinbau beobachtet.

Wie bereits ausgeführt, kann die Ursache der Störung des Folat-Stoffwechsels entweder im Bereich der fakultativen oder im Bereich der obligatorischen DNA-Methylierung liegen (vgl. Fig. 1: die rechte Seite entspricht dem Bereich der fakultativen DNA-Methylierung, die linke Seite entspricht dem Bereich der obligatorischen DNA-Methylierung).

Folgende Laborparameter wurden vor und nach der Therapie an 23 HIV-positiven Patienten mit verschiedener klinischer Symptomatik bestimmt:

1. Rotes Blutbild und Megakaryozytenfunktion
2. Weißes Blutbild und Lymphozytensubpopulation
3. Lymphozytenstimulation
4. Proteine
 - a) Gesamteiweiß
 - b) Elektrophorese
 - c) Immunelektrophorese
 - d) Zirkulierende Immunkomplexe (CIC)
5. B₁₂-Gehalt
 - a) Serum pg/ml
 - b) Erythrozyten pg/ml Zellen
 - c) mononukleäre Zellen pg/ml Zellen
6. Folat-Gehalt
 - a) Serum ng/ml
 - b) Erythrozyten ng/ml Zellen
 - c) mononukleäre Zellen ng/ml Zellen
7. HIV (Elisa) in Titerstufen
8. HIV-Westernblot (P24-core, P55-gag, gP41-env, gP120-env, gP160-env) mit Bewertung der Banden von + bis + + + +
9. β₂-Mikroglobulin korreliert
 - a) mit der Aktivität der NK-Zellen (ADCC = antibody dependent cell mediated cytotoxicity)
 - b) mit der Aktivität der CD₈-NK-Zellen
10. Neopterin Zwischenprodukt der Reaktion GPT (Guanosintriphosphat) → Tetrahydrobiopterin (Hydroxylierung von Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan)
Die Bedeutung von Neopterin ist zur Zeit noch Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen.
11. Lysozym (Muramidase) Messung der Granulozytenaktivität
12. Serologie sexuell übertragbarer Krankheiten (STD)

Zu den Laborparametern ist im einzelnen folgendes auszuführen:

Zu 1: Die Produktion von Erythrozyten (2 Millionen/sek) im Knochenmark ist die größte Zellneubildung des menschlichen Organismus. Bei den meisten der therapierten Patienten fand sich eine leichte makrozytäre, hyperchrome Anämie bedingt durch nucleo-cytoplasmäre Asynchronität (DNA-Synthese, Proteinsynthese ↔). Dies führt zu einer Vergrößerung des mittleren Erythrozytenvolumens (MCV) und einer Erhöhung des Hämoglobingehaltes des Einzelerythrozyten (HB_c↑).

Bei mit einem chain-terminator (z. B. AZT) vorbehandelten Patienten waren diese Befunde noch ausgeprägter.

Kaschiert wurde diese Anämie häufig durch Eisenmangel, Störungen der Eisenspeicherung (Ferritin) und des Eisentransports (Transferrin).

Bei allen Patienten war nach Therapie das rote Blutbild gebessert bzw. normalisiert. Die polyploiden Megaka-

ryozyten sind die einzigen blutbildenden Zellen, die das Knochenmark nicht verlassen.

Die bei einigen Patienten zu beobachtenden Störungen der Thrombozytensequestration → PDW (Platelet diameter width = Streuung der Thrombozytengröße), sowie der Thrombozytopoese (Thombo. < 14 000 µl) war das größte therapeutische Problem.

Besserungen traten immer ein, vollständige Normalisierungen waren selten.

Ursache: Störungen bei der endomitotischen Bildung des diplo- bzw. tetraploiden Chromosomensatzes im Megakaryoblasten.

Die Analyse dieses Laborparameters läßt eine Störung im Bereich der obligatorischen DNA-Methylierung vermuten.

Zu 2: Die gravierendsten Störungen im weißen Blutbild fanden sich in der Lymphozytensubpopulation, speziell bei den CD₄-Zellen (sog. Helferzellen). Abgesehen davon, daß ihre absolute Zahl im unteren oder unterhalb des Normbereichs lag, war auch ihre Funktionsfähigkeit beeinträchtigt.

Die Aufgabe der CD₄-Zellen liegt in der Informationsübertragung bei der Spezifizierung sowohl der humoralen als auch der zellvermittelten Immunantwort.

Auf den CD₄-Zellen finden sich verschiedene Rezeptoren, z. B. für IgM, für die Histokompatibilitätsantigene, für die B-Zellen oder für die CD₈-Natural-Killer-Zellen (= CD₈-cytotoxische Zellen).

Nach dem derzeitigen Wissenstand sind die polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten die ersten Zellen mit Antigenkontakt, die Makrophagen die Zellen, die für das Processing des Antigens verantwortlich sind.

Bei allen Patienten lag vor der Therapie die Anzahl der funktionstüchtigen CD₄-Zellen (= B-inducer-Rezeptor⁺, CD₈-inducer-Rezeptor⁺) weit unter 50%, nach Therapie weit über 50%, meist bei 100%.

Ein derartiger Befund läßt eine Störung im Bereich der obligatorischen DNA-Methylierung erkennen.

Die CD₈-Suppressorzellen besitzen Rezeptoren für die Fc-Stücke von Immunglobulinen der Klasse G. Durch diese werden sie aktiviert, d. h. die CD₈-Suppressorzellen exprimieren den Haupt-Histokompatibilitätsantigenkomplex II. Wie die immunsuppressive Wirkung zustande kommt, ist zur Zeit noch nicht sicher bekannt. Die hohe Anzahl aktivierter CD₈-Suppressorzellen korrelierte mit der polyklonalen Gammopathie der Patienten. Ein Absinken dieser überhöhten Fraktion der Lymphozytensubpopulation und damit auch eine Verbesserung der sogenannten T-Helfer/Suppressor-Ratio nach Therapie erfolgte sehr langsam, über Monate. Einige Normalisierungen (CD₈-Zellen absolut < 1360/µl) nach der Therapie fanden sich erst nach einem Jahr.

Diese Befunde lassen auf eine Störung sowohl der fakultativen als auch der obligatorischen DNA-Methylierung schließen.

Zu 3: Wie bereits beschrieben, wird die Basaltransformation von Lymphozyten und deren Stimulierbarkeit durch Lektine an Hand der quantitativen Inkorporation von radioaktiv markiertem Thymidin (H³-Thymidin) in die DNA der Lymphozyten gemessen. Die Maßeinheit sind Counts per Minute (cpm).

Die Stimulation

mit PHA (Phytohämagglutinin) korreliert mit der Stimulation von T-Zellen (vorwiegend CD₄)

mit Con A (Concanavalin A) von T-Zellen (vorwiegend CD₈)

mit PWM (pokeweed mitogen) von B-Zellen (T-abhängig).

Grundsätzlich geben diese Messungen Aufschluß über Störungen des de novo pathway bei der DNA-Synthese.

Basaltransformation

Außer bei den wenigen Patienten mit ausgeprägter Lymphozytose war die Inkorporation von H³-Thymidin vor der Therapie auf das 2- bis 3fache der Norm erhöht.

Lektinstimulation

Vor Therapie bei allen Patienten desolat: Mit einigen Ausnahmen von PHA war die Stimulierbarkeit der Lymphozyten meist unterhalb 10% der Norm.

Diese Befunde sprechen für eine Störung im Bereich der obligatorischen DNA-Methylierung.

Die Normalisierung von Basaltransformation und Lymphozytenstimulation nach Therapie erfolgt (wie bei dem allmählichen Zurückgehen der CD₈-S-Zellen) oft erst nach Monaten bzw. nach einem Jahr.

Zu 4: Bei allen behandelten Patienten fand sich eine Erhöhung des Gesamteiweißes im Serum.

Die Analyse der Dysproteinämie in der Elektrophorese (prozentuale Verteilung der Serumproteine) zeigt, daß die Erhöhung des Gesamteiweißes durch die Überproportionierung der Gamma-Globulin-Fraktion bedingt war.

Die Analyse der Immunelektrophorese zeigte, daß IgA, IgM, im wesentlichen aber IgG weit über die Norm erhöht waren.

Nach Information durch CD₄-B-inducer-Zellen klonieren B-Zellen zunächst (DNA-Synthese), dann werden sie zu Antikörper produzierenden Plasmazellen (Proteinsynthese).

Die zur Vereinfachung der Schematik ausgeklammerten, zur Spezifizierung der Immunantwort aber notwendigen Monozyten/Makrophagen sind Zellen, die zunächst Proteine synthetisieren, u. a. z. B. Interleukin 1, in aktiviertem Zustand aber auch DNA.

Störungen bei der Produktion spezifischer Antikörper lassen sich dafür, wie folgt, charakterisieren:

1. Proteinsynthese Makrophage↓
z. B. kein Interleukin 1.
2. DNA-Synthese Makrophage↓

kein Antigenprocessing.

3. Zell zu Zellkontakt Makrophage-CD4-B-inducer-Zelle:

- a) Antigenspezifisierung↓
- b) Rezeptorausbildung CD4-Zelle↓

4. Zell zu Zellkontakt CD4-B-inducer-Zelle — B-Zelle:

- a) Antigenspezifisierung↓
- b) Rezeptoren↓

5. Klonierung der B-Zelle↓ → Inkorporation von dUTP statt dTTP → Kettenabriß

6. Produktion von unspezifischen Antikörpern

Zirkulierende Immunkomplexe (CIC) weisen auf eine Dysproportion zwischen Antigen und spezifischen Antikörpern hin. Die Zirkulation dieser AG-AK-Komplexe ist bedingt durch eine reduzierte Präsenz der Fc-Stücke, die den Anreiz zur Phagozytose dieser Komplexe bilden.

Nach Therapie stiegen die CIC's meist an, fielen dann aber nach Monaten ab, bei manchen Patienten bis in den Normbereich.

Bei späterem Wiederanstiegen der zirkulierenden Immunkomplexe enthüllte die verfeinerte Fremdanamnese kein medizinisches, sondern ein gesellschaftliches Phänomen: Jeder der therapierten Patienten hatte früher oder später seine promiskuitive Lebensweise wieder aufgenommen.

Diese Befunde lassen eine Störung sowohl im Bereich der fakultativen als auch der obligatorischen DNA-Methylierung erkennen.

Zu 5 und 6: Ende 1986 fielen bei der Analyse der Labordaten prefinaler Aidspatienten (n=38) folgende Besonderheiten auf:

1. Der B₁₂-Gehalt der Serums war bei den Patienten weit unterhalb der Norm (um 100 pg/ml).

2. Der Folat-Gehalt des Serums lag bei allen Patienten weit oberhalb der Norm (über 20 ng/ml), obwohl zuvor keine Folsäure appliziert worden war.

3. Obwohl Antikörper gegen Hepatitis B-, Herpes simplex-, Epstein-Barr- und Cytomegalieviren vorhanden waren, verlief der Antikörpertest gegen das Virus, das diesen prefinalen Zustand angeblich verursacht hatte, bei allen Aidspatienten negativ.

Die Zusammenhänge zwischen diesen zunächst unverständlichen Befunden konnten bis Anfang 1988 aufgeklärt werden. Der dahinterstehende Pathomechanismus ist die Cell-folate-depletion.

Seit 1988 werden bei HIV-positiven Patienten routinemäßig folgende Laborparameter gemessen:

Folat in Serum, Erythrozyten und mononukleäre Zellen (Lymphozyten und Monozyten)

B₁₂ in Serum, Erythrozyten und mononukleäre Zellen.

Dabei zeigten sich vor der Therapie folgende Befunde:

a) Folat

im Serum meist im Normbereich

im Erythrozyten im unteren, meist weit unterhalb des Normbereichs

in mononukleären Zellen (außer bei Patienten mit absoluter Lymphozytose) zwischen 30 bis 50% gesunder Vergleichspersonen,

b) B₁₂

im Serum im unteren, meist unterhalb des Normbereichs

im Erythrozyten immer unterhalb des Serumwertes

in mononukleären Zellen zwischen 20 bis 30% gesunder Vergleichspersonen.

Nach der Therapie war der intrazelluläre Folat- und B₁₂-Gehalt in Erythrozyten und mononukleären Zellen bei allen Patienten im Normbereich.

Diese Befunde sprechen für eine Störung im Bereich der fakultativen DNA-Methylierung.

Zu 7: Der "Aids-Test" (HIV-Elisa) ist ein qualitativer Test. Bei dem Versuch der Quantifizierung (Titrierung) zeigte sich bei zwei Therapien 1987:

HIV-AB-Titer:

vor Therapie 1:	1 : 2 621 440
nach 3 Monaten:	1 : 10 240
vor Therapie 2:	1 : 327 680
nach 3 Monaten:	1 : 5 120

Da bei diesen beiden Therapien mit einer klinisch sichtbaren (vor allem cerebralen) Verbesserung der Patienten einhergingen, war der Schluß zulässig, daß dem Antikörperabfall (Lebenszeit von Plasmazellen ca. 1 1/2 Monate) eine Reduzierung des Antigens voranging.

Diese Befunde sprechen für eine mögliche Störung im Bereich der fakultativen DNA-Methylierung, besonders aber für eine Störung im Bereich der obligatorischen DNA-Methylierung.

Zu 8: HIV-Westernblot:

Verwendet wurde der DuPont-Test-Kit: gp 160; gp 120; gp41; P 55; P 24.

Grundsätzlich werden hierbei Virusproteine elektrophoretisch getrennt und auf Nitrozellulosestreifen fixiert. Gemessen wird dann die Anwesenheit von Antikörpern gegen diese spezifischen Virusproteine.

Da sich bei HIV nicht um ein Virus im üblichen Sinne handelt, sondern um ein RNA-Intermediat, entstanden durch behinderte Genamplifikationen bei Differenzierungsvorgängen, ist die Beurteilung eines HIV-Westernblots eingeschränkt durch zwei Kriterien:

1. Welche Proteine kommen bei einem beeinträchtigten Differenzierungsvorgang in das Serum?
2. Wie groß ist die Fähigkeit eines Patienten zur Bildung spezifischer Antikörper?

Einen entsprechenden Westernblot sowie eine Übersicht über den HIV-1-Antikörpernachweis im Immunblot zeigen die beigefügten Fig. 2 und 3.

Nach allen Therapien war eine Zunahme der Antikörperspezifität zu verzeichnen.

Diese Befunde sprechen für eine Störung sowohl im Bereich der fakultativen als auch der obligatorischen DNA-Methylierung.

Zu 9, 10 und 11: β -2-Mikroglobulin, Neopterin und Lysozym wurde bei keinem Patienten durch die Therapie signifikant geändert.

Zu 12: Serologische Untersuchungen sind vor allem bei Erkrankungen, die das Immunsystem kompromittieren, nicht zuverlässig.

So entwickelten z. B. fünf Patienten nach Therapie einen positiven Cardiolipin-Test, eine Patientin einen positiven FTA-IgG-Test. Bei einer Patientin konnte mittels PCR (polymerase chain reaction) dreimal Antigen von *Treponema pallidum* und *Borrelia burgdorferi* nachgewiesen werden; die serologischen Reaktionen blieben aber immer negativ.

Ganz allgemein sollte daher dem direkten Antigennachweis (z. B. PCR) der Vorzug gegeben werden.

Erfindungsgemäß können die Arzneimittel selbst oder eines ihrer pharmazeutisch annehmbaren Salze mit pharmazeutisch annehmbaren Säuren, wie beispielsweise Milchsäure, Zitronensäure, Äpfelsäure, Fumarsäure oder Weinsäure, oder mit pharmazeutisch annehmbaren Basen, wie Alkali- oder Erdalkalihydroxiden, -carbonaten, organischen Aminen oder Ammoniak, verwendet werden.

Die erfindungsgemäßen Arzneimittel oder ihre pharmazeutisch annehmbaren Salze können bei der Human- oder Veterinärmedizin verwendet werden.

Die Dosis, mit der die erfindungsgemäßen Arzneimittel verabreicht werden, wird von dem Verabreichungsweg, dem Körpergewicht des Patienten und dem zu behandelnden Zustand sowie seiner Stärke abhängen.

Vitamin B₁₂ wird bevorzugt in einer Dosierung von 0,1 bis 20 mg pro Tag, mehr bevorzugt 0,5 bis 5 mg pro Tag und besonders bevorzugt 1 bis 2 mg pro Tag verabreicht. Dabei sollte Hydroxy-, Aquo- oder Methylcobalamin verwendet werden. Vitamin B₆ wird bevorzugt in einer Dosierung von 10 mg bis 1200 mg pro Tag, mehr bevorzugt 50 bis 600 mg pro Tag, besonders bevorzugt 100 mg pro Tag verabreicht. Methionin wird bevorzugt in einer Dosierung von 0,5 bis 4 g pro Tag, mehr bevorzugt 1 bis 2 g pro Tag und besonders bevorzugt 1,5 g pro Tag verabreicht. Thymin und seine Derivate sowie 5-Methylcytosin und seine Derivate werden bevorzugt in einer Dosierung von 0,1 bis 160 mMol/Tag, mehr bevorzugt in einer Dosierung von 1 bis 32 mMol/Tag und besonders bevorzugt in einer Dosierung von 4 bis 16 mMol/Tag verabreicht. Penicillin G wird bevorzugt in einer Dosierung von 5 bis 80 Millionen Einheiten pro Tag, mehr bevorzugt 20 bis 40 Millionen Einheiten pro Tag und besonders bevorzugt 30 Millionen Einheiten pro Tag verabreicht. Penicillin G wird bevorzugt parenteral verabreicht, aber auch andere Verabreichungsformen sind denkbar.

Die Verbindungen Vitamin B₆, Vitamin B₁₂, Methionin, Thymin und seine Derivate, 5-Methylcytosin und seine Derivate und Penicillin G sowie die pharmazeutisch annehmbaren Salze davon können gleichzeitig oder getrennt mit dem Penicillin G und/oder einem pharmazeutisch annehmbaren Salz davon verabreicht werden. Die getrennte Verabreichung ist bevorzugt. Es ist daher bevorzugt, daß die Verbindungen Vitamin B₆, Vitamin B₁₂ und Methionin, Thymin und seine Derivate, 5-Methylcytosin und seine Derivate sowie pharmazeutisch annehmbare Salze davon in getrennten Doseinheiten vorliegen. In diesem Falle können das Penicillin G und/oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon in Monopräparaten enthalten sein.

Es ist bevorzugt, einen Patienten zuerst mit den Verbindungen der Gruppe Vitamin B₆, Vitamin B₁₂, Methionin, Thymin, 5-Methylcytosin und deren pharmazeutisch annehmbaren Salzen bis zum Nachweis von Homocystein im Urin zu behandeln. Üblicherweise dauert diese Therapie etwa vier Wochen. Sie kann aber auch nur zwei Wochen oder sechs Wochen dauern und hängt von der Schwere des zu behandelnden Zustands ab. Während der Therapie mit Vitamin B₆, Vitamin B₁₂, Methionin, Thymin und seinen Derivaten, 5-Methylcytosin und seinen Derivaten und/oder einem pharmazeutisch annehmbaren Salz davon können gleichzeitig Penicillin G und/oder pharmazeutisch annehmbare Salze davon mit verabreicht werden. Je nach Art der Erkrankung ist es zweckmäßig, gleichzeitig zu den Verbindungen Vitamin B₆, Vitamin B₁₂ und Methionin, Thymin und seinen Derivaten, 5-Methylcytosin und seinen Derivaten und/oder pharmazeutisch annehmbaren Salzen davon Penicillin G zu verabreichen.

Die erfindungsgemäßen Arzneimittel bzw. die erfindungsgemäß verwendeten Arzneimittel können in an sich bekannter Weise unter Verwendung von einem oder mehreren physiologisch annehmbaren Trägern oder Arzneimittelverdünnungsmitteln formuliert werden. Präparate für die Verabreichung auf oralem Weg sind bevorzugt. Beispielsweise können Tabletten wie oben ausgeführt die Verbindungen Vitamin B₆, Vitamin B₁₂ und Methionin, Thymin, Ribothymidin, Desoxythymidin, 5-Methylcytosin, 5-Methyldesoxycytidin und pharmazeutisch annehmbare Salze davon und Penicillin G und pharmazeutisch annehmbare Salze davon getrennt enthalten oder sie können beliebige Kombinationen aus den obigen Verbindungen enthalten. Bevorzugt liegt das Arzneimittel in Einheitsdosisform vor.

Präparate für die orale Verwendung, wie Tabletten und Kapseln, können nach an sich bekannten Verfahren

mit pharmazeutisch annehmbaren Verdünnungsmitteln, wie Bindemitteln (beispielsweise vorgelatinisierte Maisstärke, Polyvinylpyrrolidon oder Hydroxypropylmethylcellulose); Füllstoffen (beispielsweise Lactose, mikrokristalline Cellulose oder Calciumhydrogenphosphat); Schmiermitteln (beispielsweise Magnesiumstearat, Talk oder Siliciumdioxid); Desintegrationsmitteln (beispielsweise Kartoffelstärke oder Natriumstärkeglykolat) oder Benetzungsmitteln (beispielsweise Natriumlaurylsulfat), hergestellt werden. Tabletten können nach an sich gut bekannten Verfahren beschichtet werden.

Flüssige Präparationen für die orale Verabreichung können in Form von beispielsweise Lösungen, Sirupen oder Suspensionen vorliegen, oder sie können als Trockenprodukt für die Rekonstitution mit Wasser oder einem geeigneten anderen Träger vor der Verwendung vorliegen. Solche flüssigen Präparationen können nach an sich bekannten Verfahren mit pharmazeutisch annehmbaren Zusatzstoffen, wie Suspensionsmitteln (Sorbitirup, Cellulosederivate oder hydrierte genießbare Fette); Emulgiermitteln (beispielsweise Lecithin oder Acacia); nichtwäßrigen Trägern (beispielsweise Mandelöl, ölige Ester, Ethylalkohol oder fraktionierte Pflanzenöle) und Konservierungsstoffen (beispielsweise Methyl- oder Propyl-p-hydroxy-benzoaten oder Sorbinsäure), hergestellt werden. Die Präparationen können ebenfalls Puffersalze, Geschmacksmittel, Farbstoffe und Süßmittel, je nach Bedarf, enthalten.

Zubereitungen für die orale Verabreichung können geeigneterweise so formuliert sein, daß eine kontrollierte Freigabe der aktiven Bestandteile erfolgt.

Für die parenterale Verabreichung können die Zubereitungen in Form einer für die Bolus-Injektion oder kontinuierliche Infusion geeigneten Form vorliegen. Die Zubereitungen für die Injektion können in Dosiseinheitsform, beispielsweise in Ampullen, oder in Behältern mit mehreren Dosiseinheiten mit einem zugegebenen Konservierungsstoff vorliegen. Die Präparate können in Form von Suspensionen, Lösungen oder Emulsionen in öligen oder wäßrigen Trägern vorliegen, und sie können Formulierungshilfsstoffe, wie Suspensions-, Stabilisierungs- und/oder Dispersionsmittel, enthalten. Alternativ können die aktiven Bestandteile in Pulverform für die Rekonstitution mit einem geeigneten Träger, beispielsweise sterilem pyrogenfreien Wasser, vor der Verwendung vorliegen.

Die Nucleotide der Thymin- und der m⁵-Cytosinreihe müssen in einer zellmembrangängigen Form verabreicht werden, z. B. in Lecithinliposomen verpackt.

Für die rektale Verabreichung können die Zubereitungen als Suppositorien oder als Retentions-Klistiere vorliegen, beispielsweise als solche, welche an sich bekannte Suppositorien-Grundstoffe, wie Kakaobutter oder andere Glyceride, enthalten.

Die erfindungsgemäßen bzw. erfindungsgemäß verwendeten pharmazeutischen Arzneimittel können nach an sich bekannten Verfahren, die in der pharmazeutischen Industrie gut bekannt sind, hergestellt werden.

Beispielsweise können die erfindungsgemäßen bzw. erfindungsgemäß verwendeten Arzneimittel oder eines ihrer Salze gegebenenfalls mit geeigneten Verdünnungsmitteln vermischt werden. Die Tabletten können beispielsweise durch direkte Verpressung eines solchen Gemisches hergestellt werden. Kapseln können hergestellt werden, indem das Gemisch zusammen mit geeigneten Verdünnungsmitteln in Gelatinekapseln unter Verwendung einer geeigneten Füllmaschine eingefüllt wird. Formulierungen mit kontrollierter Freigabe für die orale oder rektale Verabreichung können in an sich bekannter Weise zubereitet werden, wie es für Formen mit kontrollierter Freigabe bzw. verzögerter Freigabe bekannt ist.

Die erfindungsgemäßen bzw. erfindungsgemäß verwendeten Arzneimittel können gegebenenfalls in einer Mehrfachpackung oder einer Abgabevorrichtung vorliegen, welche eine oder mehrere Dosiseinheitsformen, die die aktiven Bestandteile enthalten, enthält. Die Packungen können beispielsweise Metall- oder Kunststoffolie enthalten, wie eine Blisterpackung bzw. Durchsteckpackung. Die Packung oder die Abgabevorrichtung kann Bedienungsanleitungen bzw. Anleitungen für die Verabreichung enthalten. Wenn die Verbindungen Vitamin B₆, Vitamin B₁₂, Methionin, Thymin und seine Derivate, 5-Methylcytosin und seine Derivate und Penicillin G oder jeweils eines ihrer pharmazeutisch annehmbaren Salze als getrennten Präparate verabreicht werden, können diese beispielsweise in Form einer Mehrfachpackung bzw. Doppelpackung vorliegen.

Patentsprüche

1. Arzneimittel, **dadurch gekennzeichnet**, daß es mindestens eine Verbindung aus der Gruppe Methionin, Vitamin B₁₂, Vitamin B₆, Thymin, 5-Methylcytosin und pharmazeutisch annehmbare Salze davon zusammen mit Penicillin G und/oder einem pharmazeutisch annehmbaren Salz davon sowie übliche Träger und/oder Verdünnungsmittel enthält.

2. Arzneimittel nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß es in Dosiseinheitsform vorliegt, die pro Dosiseinheit 0,5 bis 4 g Methionin, 0,1 bis 20 mg Vitamin B₁₂ und 10 mg bis 1200 mg Vitamin B₆, Thymin und seine Derivate 0,1 bis 160 mMol, 5-Methylcytosin und seine Derivate 0,1 bis 160 mMol oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon enthält.

3. Arzneimittel nach mindestens einem der Ansprüche 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß es in Dosiseinheitsform vorliegt, die pro Dosiseinheit 5 bis 80 Millionen Einheiten Penicillin G und/oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon enthält.

4. Arzneimittel nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß es in einer für die orale Verabreichung geeigneten Form vorliegt.

5. Arzneimittel nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß es in einer für die parenterale Verabreichung geeigneten Form vorliegt.

6. Verwendung von mindestens einer Verbindung aus der Gruppe Methionin, Vitamin B₁₂ und Vitamin B₆, Thymin, 5-Methylcytosin und eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes davon zusammen mit Penicillin G und/oder einem pharmazeutisch annehmbaren Salz davon zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Stö-

rungen des Folat-Stoffwechsels, wobei die Verwendung von Verbindungen aus der Gruppe Methionin, Vitamin B₁₂, Vitamin B₆, Thymin, 5-Methylcytosin und eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes davon gleichzeitig, getrennt oder zeitlich abgestuft mit der Verwendung von Penicillin G und/oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes davon erfolgen kann.

7. Verwendung nach Anspruch 6 zur Behandlung und/oder Prophylaxe von AIDS und Aids-Related-Complex (ARC), Syphilis, Chronic-Immuno-Deficiency-Syndrome (CIDS) bzw. Chronic-Fatigue-Syndrome (CFS) und multipler Sklerose (MS). 5

8. Verwendung nach Anspruch 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Arzneimittel in Dosiseinheitsform vorliegt, die 10 mg bis 1200 mg Vitamin B₆, 0,1 bis 20 mg Vitamin B₁₂, 0,5 bis 4 g Methionin, Thymin und seine Derivate 0,1 bis 160 mMol, 5-Methylcytosin und seine Derivate 0,1 bis 160 mMol und 5 bis 80 Millionen Einheiten Penicillin G pro Dosiseinheit oder jeweils ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon enthält. 10

9. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 6 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindungen der Gruppe Methionin, Vitamin B₁₂ und Vitamin B₆, Thymin, 5-Methylcytosin und deren Nucleoside und pharmazeutisch annehmbare Salze davon in oral verabreichbarer Form und Penicillin G, Thymin- und 5-Methylcytosinnucleotide und/oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon in parenteral verabreichbarer Form vorliegen. 15

10. Mehrfachpackung, dadurch gekennzeichnet, daß sie getrennte Dosiseinheiten aus mindestens einer Verbindung der Gruppe Methionin, Vitamin B₁₂, Vitamin B₆, Thymin und seine Derivate, 5-Methylcytosin und seine Derivate und pharmazeutisch annehmbare Salze davon zusammen mit Penicillin G und/oder einem pharmazeutisch annehmbaren Salz davon jeweils zusammen mit üblichen Trägern und/oder Verdünnungsmitteln enthält. 20

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

25

30

35

40

45

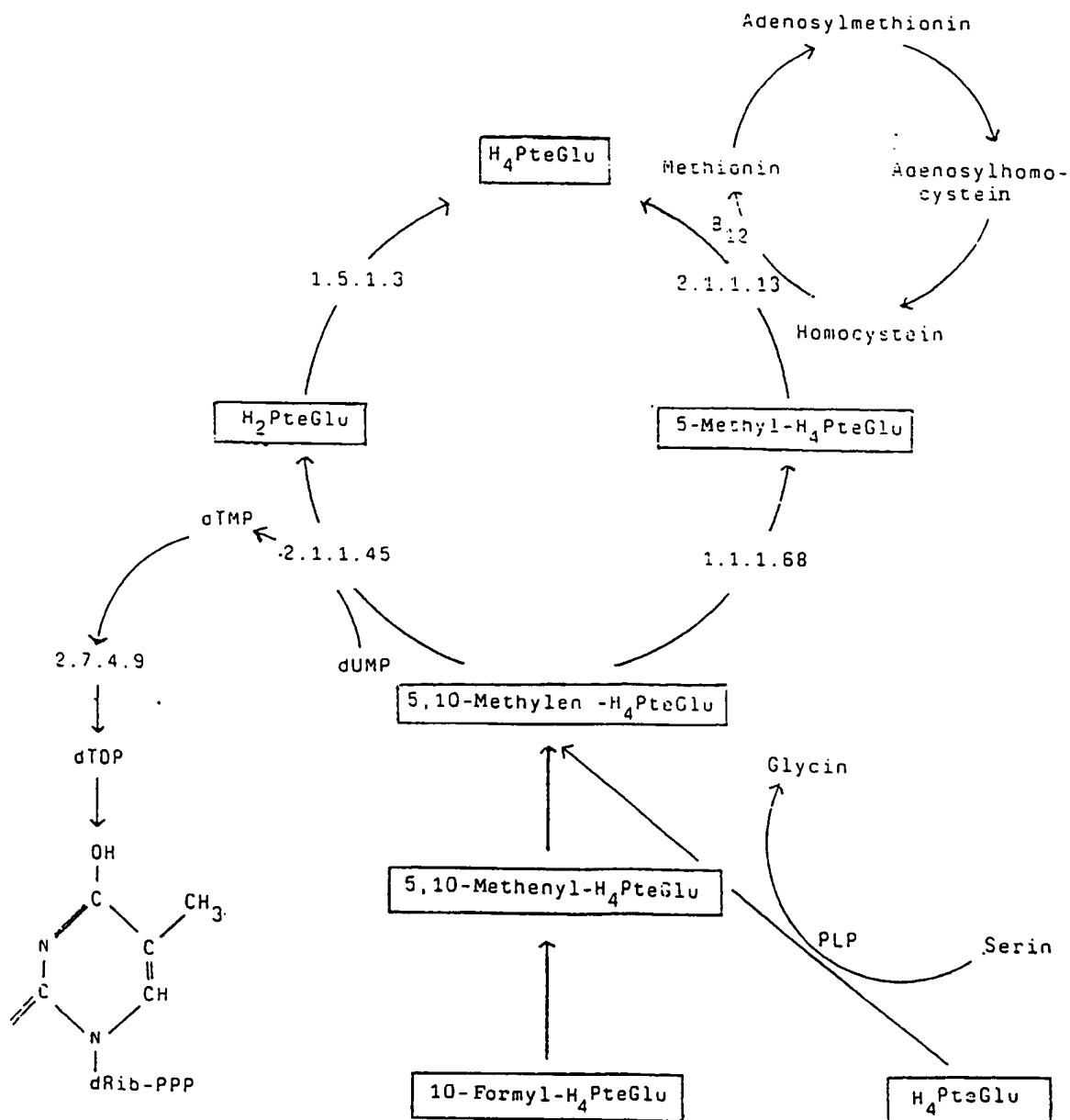
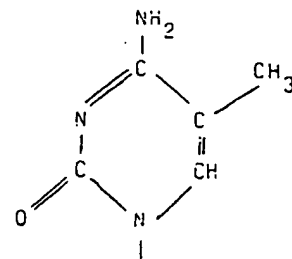
50

55

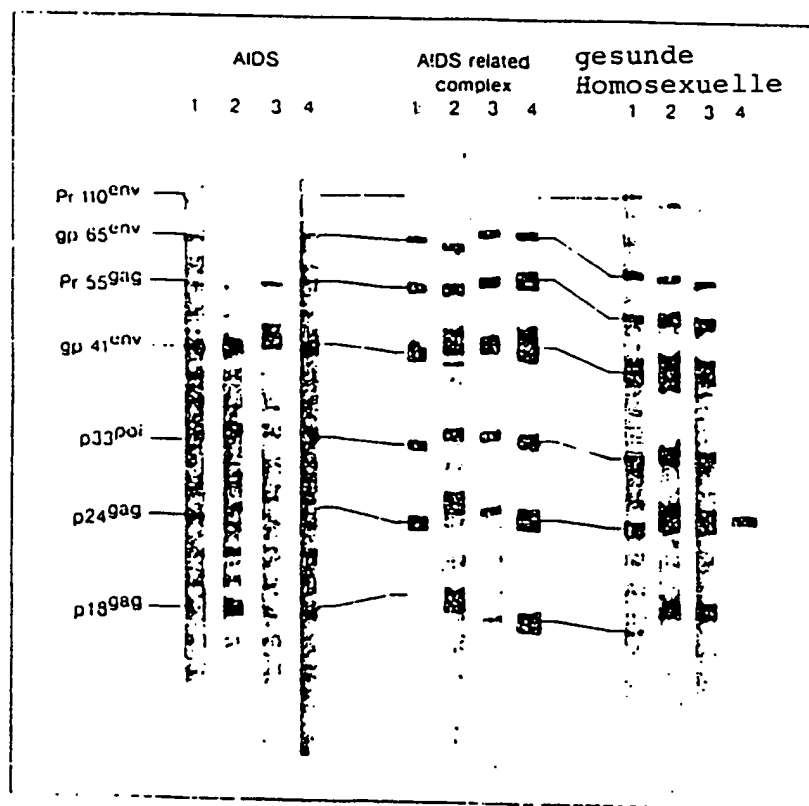
60

65

Figur 1



Figur 2



Figur 3

Virusproteine			Befund*	
Molekülmasse (Dalton)	Abk.	Typ	Aussehen der Immunoblot- Farbbanden	Vorkommen bei HIV-1-Infektion
160.000	gp160	envelope (Vorläufer des gp120)	breite, diffuse Bande	häufig in Verbindung mit gp120
120.000	gp120	envelope	breite, diffuse Bande	häufig
65.000	p65	Polymerase	schmale Bande	rel. häufig
53.000 – 55.000	p53 – 55	Protein-precursor (gag)	schmale Bande	häufig in Verbindung mit p24
41.000 – 43.000	gp41 – 43	envelope (Transmembran-Protein)	breite Bande, verwaschene Randzonen	sehr häufig, env-Hauptbande
30.000	p30	Endonuclease	schmale Bande	rel. häufig
24.000	p24	core	breite Bande	sehr häufig (AIDS-Vorstadien), core-Hauptbande
18.000	p18	Internes Protein (gag)	schmale Bande	relativ häufig

* gp41-Nachweis u. ggf. weitere spezifische Banden = HIV-1 positiv, ebenso p24 neben gp41 und/oder gp120. 160. p24-Nachweis allein oder weitere Banden (außer gp41, gp120) = HIV-1 fraglich positiv, spätere Befundkontrolle erforderlich.